

EKSPLORASI NEMATODA ENTOMOPATOGEN PADA BEBERAPA WILAYAH DI JAWA TIMUR

Oleh :
Nugrohorini¹⁾

ABSTRACT

Entomopatogenic Nematodes is the biological insecticides can be used to control Lepidoptera, Coleoptera and Diptera order. The nematodes can be isolated from soil of several locations in East Java. The aim of the research is to know the genera of entomopathogenic nematodes and population density of that nematodes from each location in East Java. The methods of the research are nematodes isolation with baiting methods, identification and count of nematodes population density. The result of the research showed that the entomopathogenic nematodes Isolate was found from Jember, Malang, Mojokerto, Sidoarjo. The genera of all nematodes Isolate is *Steinernema* sp. The highest population of Entomopatogenic Nematodes was found from Malang Isolate.

Keyword : Entomopatogenic Nematodes, biological insecticides, *Steinernema* sp., population density, Isolate.

PENDAHULUAN

Nematoda adalah mikroorganisme berbentuk cacing berukuran 700-1200 mikron dan berada di dalam tanah. Nematoda yang ada di dalam tanah, ada yang tergolong free living, nematode parasit tanaman dan nematode entomopatogen. Nematoda yang saat ini dikembangkan adalah nematoda entomopatogen yang dapat digunakan sebagai insektisida biologi yang sangat potensial untuk mengendalikan serangga hama baik ordo Lepidoptera, Coleoptera dan Diptera (Ehler, 1996). Nematoda entomopatogen telah dipergunakan untuk mengendalikan serangga hama pada tanaman pangan, perkebunan, rumput lapangan golf serta tanaman hortikultura (Sulistiyanto, 1998). Nematoda entomopatogen dapat diisolasi dari berbagai tempat di seluruh belahan dunia, khususnya dari golongan Steinernematidae dan Heterorhabditidae dapat digunakan untuk mengendalikan hama-hama golongan Lepidoptera, seperti : *Galleria mellonella* (L), *Spodoptera exigua* Hubner, *Agrotis ipsilon* Hufnagel yang virulensinya mencapai 100 persen.

Untuk menentukan apakah nematoda ini dapat digunakan sebagai biopestisida atau tidak, hendaknya perlu dilakukan isolasi yang selanjutnya diidentifikasi untuk mengetahui jenisnya.

Penelitian bertujuan untuk mendapatkan jenis nematoda entomopatogen pada beberapa wilayah di Jawa Timur, serta menghitung kepadatan populasinya.

METODE PENELITIAN

1. Isolasi Nematoda Entomopatogen

Mengambil sample tanah dari beberapa wilayah di Jawa Timur, dengan ketentuan jenis tanah dan kelembaban yang sesuai bagi kehidupan nematoda. Sampel tanah diambil pada kedalaman 20 cm, lima ulangan dengan jarak pengambilan sampel 25 meter.

Pelaksanaan Isolasi

Masing-masing sampel tanah diisikan pada gelas-gelas kaca sebanyak 200 gram, kemudian memasukkan 10 ekor larva *Galleria mellonella* instar akhir yang dibungkus kain kassa ke dalam gelas tersebut. Setelah larva *G. mellonella* mati, selanjutnya dilakukan White Trap dalam cawan petri. Metode isolasi sesuai dengan metode baiting oleh Bedding dan Akhurst (1975) yaitu larva serangga dimasukkan dalam tanah (200 gram per baiting), setelah 3-5 hari larva yang mati kemudian diamati dan dihitung populasi dari masing-masing kedalaman. Penghitungan dilakukan menggunakan mikroskop menggunakan hand counter dan counting dish.

¹⁾ Staf Jurusan Agrotekologi, Fakultas Pertanian, UPN "Veteran" Jawa Timur

2. Identifikasi NEP

Identifikasi nematoda entomopatogen yang ditemukan adalah dengan cara sebagai berikut :

a. Pengamatan Gejala pada Serangga Inang

Pengamatan pada serangga inang berfungsi untuk melihat gejala serangan oleh nematoda parasit serangga pada bagian kutikula yang ditunjukkan dengan adanya perubahan warna. Apabila tubuh serangga berwarna hitam kecoklatan/caramel, berarti serangga tersebut terinfeksi *Steinernematidae*, dan berwarna kemerahan jika terinfeksi *Heterorhabditidae*. Hal ini disebabkan oleh adanya reaksi bakteri simbiosis, *Xenorhabdus* spp. atau *Photorhabdus* spp. yang dikeluarkan oleh nematoda pada saat didalam tubuh serangga inang. Pengujian menggunakan ulat bambu yang berwarna putih namun dapat juga digunakan *G. mellonella* atau *Tenebrio molitor* sebagai alternatif. Uji dilakukan dengan menginokulasikan nematoda entomopatogen fase juvenil infeksi pada ulat/larva tersebut dan ditempatkan pada temperatur ruang selama 24-48 jam. Hasilnya cukup dapat dijadikan acuan untuk membedakan antara *Steinernematidae* dan *Heterorhabditidae*.

b. Pengamatan Morfologis dan Morfometriks

Identifikasi dilakukan secara morfologis yaitu dengan mengamati morfologi nematoda menggunakan mikroskop binokuler, meliputi pengamatan ukuran tubuh nematoda, bentuk kepala, kait pada bagian kepala dan striasi longitudinal pada tubuh nematoda.

Identifikasi juga dilakukan dengan metode morfometriks. karakteristik diagnosa yang sangat penting antara lain; Jantan dibedakan dari bentuk dan dimensi dari panjang, bentuk dan besar spicula, susunan dan jumlah genital papillae dan ada tidaknya mucron. Dari data yang diperoleh, dicocokkan dengan kunci determinasi oleh Poinar (1979),

c. Identifikasi Bakteri Simbiosis Nematoda Entomopatogen

Sebelum melakukan identifikasi bakteri, dilakukan isolasi bakteri lebih dahulu. Isolasi

bakteri simbiosis dilakukan langsung dari larva *Galleria melonella* yang telah terinfeksi nematoda entomopatogen. Sterilisasi permukaan larva yang terinfeksi nematoda dilakukan dengan menggunakan alkohol 95% selama 15 menit, dibilas tiga kali dengan aquadest steril, kemudian dikeringkan dengan kertas saring steril. Bagian tungkai larva *Galleria melonella* yang telah mati dipotong dengan pisau stainless steril dan cairan haemolymph yang keluar dari tubuh larva digoreskan pada media Nutrien Agar atau media NA-NR (Lampiran 1-III). Media diinkubasi pada suhu 25°C selama 24 jam. Selanjutnya dilakukan pengamatan koloni bakteri yang muncul pada media Nutrien Agar tersebut.

3. Kepadatan Populasi Nematoda Entomopatogen Isolat dari Beberapa Wilayah di Jawa Timur

Untuk mengetahui kepadatan populasi Nematoda, maka dilakukan penghitungan populasi nematoda isolat dari masing-masing wilayah menggunakan Mikroskop, counting dish dan Hand Counter.

4. Pengujian Toksisitas Nematoda entomopatogen terhadap Hama

Uji di laboratorium diawali dengan melakukan uji konsentrasi nematoda (50 IJ/ml, 100 IJ/ml, 200 IJ/ml, 400 IJ/ml, 800 IJ/ml) nematoda entomopatogen yang terhadap hama (larva dan pupa *P. xylostella*), kemudian hasil uji konsentrasi tersebut digunakan sebagai dasar penentuan nilai Lethal Concentrate (LC_{50}).

Uji dilakukan dengan cara meletakkan larva *Plutella xylostella* instar I, II, III, IV dan pupa *Plutella xylostella* dalam tiap cawan Petri yang telah dilapisi kertas saring lembab dan diberi lembar krop kubis. Pada masing-masing cawan Petri yang telah diberi larva *P. xylostella* diaplikasi nematoda entomopatogen patogenisitas tertinggi dengan konsentrasi 50, 100, 200, 400 dan 800 IJ/ml. Pada perlakuan kontrol, larva dan pupa *P. xylostella* diaplikasi dengan air steril. Percobaan ini menggunakan 10 ekor larva instar I, II, III, IV dan pupa pada masing-masing konsentrasi dan diulang sebanyak 5 kali (n=40). Persentase kematian larva dan

pupa dihitung 48 jam setelah aplikasi. Rancangan percobaan menggunakan Rancangan Acak Lengkap. Penentuan nilai LC_{50} dilakukan dengan menghitung rerata kematian larva dan pupa *P. xylostella* terlebih dahulu menggunakan rumus Abbot (1925) dan selanjutnya dianalisis menggunakan analisis probit (Finney, 1971).

HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Isolasi Nematoda Entomopatogen

Hasil isolasi nematoda entomopatogen yang diperoleh dari beberapa daerah di wilayah Jawa Timur yaitu Jember, Malang, Mojokerto, Sidoarjo dan Lamongan, diketahui bahwa nematoda hanya diperoleh dari empat daerah yaitu Jember, Malang, Mojokerto, Sidoarjo. Sampel tanah dari keempat wilayah ini bertekstur remah (tidak liat dan tidak terlalu berpasir). Pada sampel tanah yang berasal dari Lamongan tidak ditemukan nematoda entomopatogen. Hal ini disebabkan karena tanah yang diambil dari daerah Lamongan adalah jenis lempung berliat dan berwarna kekuningan. Nematoda tidak dapat hidup pada jenis tanah lempung berliat, karena pada jenis tanah ini tidak terdapat rongga sehingga oksigen tidak dapat masuk ke dalam tanah secara maksimal.

2. Identifikasi Nematoda Entomopatogen

Hasil baiting dan pengamatan gejala pada kutikula larva *Galleria mellonella* menunjukkan bahwa tubuh larva yang mati berwarna coklat karamel, lunak, tidak berbau busuk dan apabila dibedah didalamnya terdapat nematoda. Warna coklat karamel pada tubuh serangga yang terserang menunjukkan bahwa serangga tersebut terserang nematoda genus tertentu.

Hasil pengamatan morfologis diketahui bahwa ciri morfologis nematoda yaitu kutikulanya halus, mempunyai striasi longitudinal dan tidak punya kait pada bagian anterior tubuhnya.

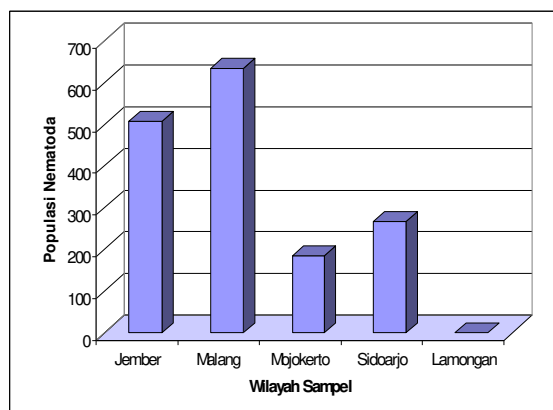
Hasil isolasi bakteri simbiosis dari tubuh nematoda diketahui bahwa bakteri yang diperoleh adalah jenis *Xenorhabdus* sp. Ciri bakteri *Xenorhabdus* sp., koloninya berbentuk bulat mengkilat menyerupai lendir, cembung, tepi agak rata dengan struktur dalam meneruskan

cahaya, sedangkan fase sekunder menunjukkan karakteristik koloni berbentuk bulat, agak cembung, tepi agak rata, struktur dalam menyerupai pasir halus dengan meneruskan sinar meskipun benda dibawahnya tidak semua terlihat dengan jelas (Woodring & Kaya, 1988).

Berdasarkan hasil-hasil pengamatan gejala warna kutikula pada serangga terserang, morfologi nematoda dan isolasi bakteri simbiosisnya, dapat diidentifikasi bahwa nematoda hasil isolasi dari empat daerah yaitu Jember, Malang, Mojokerto, Sidoarjo daerah Malang adalah jenis *Steinernema* sp.

3. Kepadatan Populasi Nematoda Entomopatogen Isolat dari Beberapa Wilayah di Jawa Timur

Hasil penghitungan populasi nematoda yang diperoleh dari beberapa wilayah di Jawa Timur yaitu :



Gambar 1. Histogram Populasi NEP dari wilayah Jawa Timur

Hasil penghitungan populasi nematoda entomopatogen diketahui bahwa populasi tertinggi diperoleh dari sampel wilayah Malang. Tingginya populasi nematoda di wilayah Malang, diduga karena jenis tanah di wilayah tersebut remah dan kelembaban tanahnya sesuai bagi kehidupan nematoda..

Nematoda tidak dapat hidup pada jenis tanah lempung berliat, karena pada jenis tanah ini tidak terdapat rongga sehingga oksigen tidak dapat masuk ke dalam tanah secara maksimal.

4. Pengujian Toksisitas Nematoda entomopatogen terhadap Hama

Pengujian toksisitas nematoda entomopatogen dilakukan untuk mendapatkan nilai LC_{50} .

Penentuan nilai Lethal Concentrate (LC_{50}) didasarkan pada hasil uji konsentrasi nematoda *Steinernema* spp. terhadap kematian larva dan pupa *P. xylostella*, yang selanjutnya dianalisis menggunakan analisis probit dengan membuat persamaan regresi antara konsentrasi dengan nilai probit (Finney, 1971) (Tabel 1). Nilai LC_{50} pada larva instar III - IV lebih rendah (4,51 IJ/ml dan 12,564 IJ/ml) dibanding nilai LC_{50} pada larva instar I - II (142,215 IJ/ml dan 20,550 IJ/ml), yang berarti hanya dengan mengaplikasikan nematoda pada konsentrasi optimal lebih rendah (4,51 IJ/ml dan 12,564 IJ/ml) sudah mampu menyebabkan kematian 50% pada larva instar III - IV. Berdasarkan nilai LC_{50} yang diperoleh, maka nematoda *Steinernema* spp. lebih efektif digunakan untuk mengendalikan larva *P. xylostella* instar III - IV.

Tabel 1. Nilai LC_{50} *Steinernema* spp. pada *P. xylostella*

Instar	Nilai LC_{50}
	(IJ / ml)
I	142,215
II	20,550
III	4,510
IV	12,564
Pupa	992,506

Nilai LC_{50} yang tertinggi adalah nilai LC_{50} dari pupa, yaitu sebesar 992,506 IJ/ml. Nilai LC_{50} yang tinggi pada pupa berhubungan dengan terjadinya perubahan morfologi, anatomi dan perilaku serangga. Pada pupa terjadi proses pemendekan ukuran tubuh, sklerotisasi kutikula dan penyempitan lubang-lubang alami, terutama spirakel. Pupa sudah tidak membutuhkan makan dan tidak aktif bergerak sehingga kurang menguntungkan bagi *Steinernema* spp. karena *Steinernema* spp. membutuhkan inang yang aktif bergerak (mobile). Oleh karena itu untuk mematikan 50% pupa *P. xylostella* dibutuhkan konsentrasi nematoda yang sangat tinggi (992,506 IJ/ml) dibanding konsentrasi yang dibutuhkan untuk mematikan 50% larva *P. xylostella*.

Penentuan konsentrasi optimal (nilai LC_{50}) dimaksudkan agar nematoda *Steinernema* spp.

efektif untuk mengendalikan hama. Apabila konsentrasi nematoda *Steinernema* spp. melebihi sejumlah konsentrasi tertentu, diduga akan terjadi kompetisi inter spesies nematoda *Steinernema* spp.. Dugaan mengenai pengaruh penggunaan konsentrasi yang melebihi batas optimal telah dilaporkan oleh Kaya & Koppenhofer (1996), bahwa konsentrasi nematoda entomopatogen (termasuk *Steinernema* spp.) yang digunakan harus sesuai dengan batas konsentrasi optimalnya. Apabila konsentrasi yang digunakan melebihi batas optimal, maka akan menciptakan suatu kompetisi dalam hal ruang dan makanan antar nematoda entomopatogen itu sendiri. Kompetisi ini yang menyebabkan nematoda entomopatogen kurang efektif apabila diaplikasikan melebihi batas konsentrasi optimalnya.

KESIMPULAN

- Hasil isolasi nematoda dari beberapa wilayah di Jawa Timur, hanya diperoleh nematoda dari 4 wilayah saja (Jember, Malang, Mojokerto, Sidoarjo).
- Hasil identifikasi nematoda dari ke empat wilayah tersebut adalah *Steinernema* spp.
- Kepadatan populasi nematoda tertinggi diperoleh dari nematoda Isolat Malang.
- *Steinernema* spp. lebih efektif untuk mengendalikan larva *P. xylostella* instar III-IV

DAFTAR PUSTAKA

- Bedding, R.A. (1981) Low cost in vitro mass production of *Neoplectana* and *Heterorhabditis* species (nematodes) for field control of insect pest. *Nematologica* 27 : 109-114.
- Boemare, N.E., Lanmond and Mauleon, H. (1996) The entomopathogenic nematodes *Bacterium* complex, biology, life cycle and vertebrate safety. *Biocontrol Science and Technology* 6 : 333-346.
- Ehlers, R.U. (2001) Mass production of entomopathogenic nematodes for plant protection. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 56 : 623-633.

- Gaugler, R. and Kaya, H.K. (1990) Entomopathogenic Nematodes in Biological Control. CRC Press. Boca Raton. Florida.
- Kaya, H.K. and Koppenhofer, A.M. (1996) Effect of microbial and other antagonistic organism and competition on entomopathogenic nematodes. *Biocontrol Science and Technology*. 357-371.
- Poinar, G.O. (1990) Taxonomy and biology of Steinernematidae and Heterorhabditidae. Entomopathogenic Nematodes in biological Control of Insect. CRC Press. Boca Raton. Florida. P. 23-60.
- Simoes, N. and Rosa, J.S. (1996) Pathogenecity and host specificity of entomopathogenic nematodes. *Biocontrol Science and Technology* 6 : 403-412.